



TITLE:

Principal component analysis uncovers
cytomegalovirus-associated NK cell
activation in Ph⁺ leukemia patients treated
with dasatinib(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Ishiyama, Ken-ichi

CITATION:

Ishiyama, Ken-ichi. Principal component analysis uncovers cytomegalovirus-associated NK cell activation in Ph⁺ leukemia patients treated with dasatinib. 京都大学, 2017, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2017-01-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20072>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	石山 賢一
論文題目	Principal component analysis uncovers cytomegalovirus-associated NK cell activation in Ph ⁺ leukemia patients treated with dasatinib (主成分分析により明らかになったダサチニブ治療中のフィラデルフィア染色体陽性白血病患者におけるサイトメガロウイルス関連 NK 細胞の活性化)		
(論文内容の要旨)			
<p>[背景] フィラデルフィア染色体(Ph)陽性白血病の治療はチロシンキナーゼ阻害薬(TKI)の登場によって劇的に改善された。現在本邦ではイマチニブ、ニロチニブ、ダサチニブ(DA)の 3 つの TKI が第一選択薬として使用可能である。近年、DA 治療中の一部の患者において NK 細胞や CD8 陽性 T 細胞からなる顆粒リンパ球(Large granular lymphocyte : LGL)の増加を認め、これが高い治療効果と相関することが報告されている。LGL の増加はほぼサイトメガロウイルス(CMV)既感染者にのみ見られるが、CMV の再活性化を認める患者はごく一部であることから、CMV の関与は明らかにされていない。一方で、CMV 感染は NK 細胞の分化を促進し、NKG2C、CD57 陽性の高分化型 NK 細胞の割合を増加させることが報告されている。本研究では、DA 服用患者において、主に NK 細胞が増加していることを見出したことから、詳細に NK 細胞マーカーを解析し、NK 細胞増加のメカニズムを探索した。</p> <p>[方法] Ph 陽性白血病の DA 服用患者 36 名、他のチロシンキナーゼ(OTKI)服用患者 26 名、健常者 15 名を対象にフローサイトメトリーを用いて 19 種類の NK 細胞マーカーを測定し、主成分分析(PCA)を用いて解析した。機能解析として慢性骨髄性白血病(CML)細胞株である K562 との共培養による細胞傷害活性、サイトカイン産生能の解析を行った。</p> <p>[結果] CMV 既感染(CMV⁺)の DA 服用患者では 30 名のうち 17 名で NK 細胞の増加を認め、CMV 再活性化は 9 名に認めた。一方で CMV 未感染(CMV⁻)の DA 服用患者 6 名では NK 細胞増加を認めなかった。NKG2C、CD57 の発現割合は CMV⁺群で CMV⁻群より有意に高かったが、TKI 間の違いは明らかではなかった。PCA では第 1 主成分(PC1)の値が CMV 関連高分化を示す NK 細胞マーカーの発現割合と正の相関を示した。PC1 値は CMV⁻群で最も低く、CMV⁺健常者、CMV⁺OTKI 群、CMV⁺DA 群の順に有意に増加した。即ち、CMV 関連高分化型 NK 細胞の割合がこの順に増加していることが分かった。第 2 主成分の値は主に NKG2C、KIR など遺伝的背景の影響下で NK 細胞の分化とともに発現するマーカーの発現割合によって規定され、PC1 値の増加に伴って拡散する傾向を示した。PC1 値の解析により以下の結果を得た。CML 及び急性骨髄性白血病の初診時に既に CMV⁺健常者群より高分化型 NK 細胞の割合が増加していた。さらに CMV⁺の CML 患者は DA 治療によって高分化型 NK 細胞の割合が増加したが、OTKI 治療では変化がなかった。また初診時に高分化型 NK 細胞の割合が高い CMV⁺ CML 患者は、割合が低い患者に比べて DA 開始後の NK 細胞の絶対数の増加が有意に顕著であった。K562 を用いた機能解析では、CMV⁺ DA 群において、NKG2C⁺ NK 細胞は NKG2C⁻ NK 細胞に比較し、高い細胞傷害活性を示した。</p> <p>[考察] DA 治療中に増加する LGL の主体が CMV 関連高分化型 NK 細胞であることから、LGL 増加のメカニズムとして無症候性の CMV 再活性化の関与が強く示唆される。更に白血病発症によっても CMV 関連高分化型 NK 細胞が増加し、治療前の高分化型 NK 細胞の割合はその後の DA 治療による LGL の増加を予測する重要な因子と考えられる。以上の知見は NKG2C、CD57 など NK 細胞マーカーの個別解析では得られないものであり、PCA</p>			

による多数のマーカーの統合的な解析の重要性が強調される。In vitro の実験で DA は免疫細胞(T 細胞、NK 細胞、形質細胞様樹状細胞)の機能を抑制することから、NK 細胞の分化・増殖は DA による免疫抑制により引き起こされた CMV 再活性化による間接的な作用が示唆される。近年、CML の治療中止後の無治療寛解(TFR)維持例では NK 細胞が有意に多いとの報告があり、活性化した CMV 関連 NK 細胞が TFR 維持に寄与している可能性がある。本研究では、PCA を用いた詳細な NK 細胞の分子マーカー解析によって白血病患者における NK 細胞の特徴を捉え、CMV とダサチニブが NK 細胞の分化、増殖に決定的な役割を果たしていることを明らかにした。			
（論文審査の結果の要旨）			
本研究はフィラデルフィア染色体陽性白血病のダサチニブ治療中にみられる大顆粒リンパ球（LGL）増加の機序解明を目的として臨床検体を解析した観察研究である。これまで、LGL増加の機序の一つとしてサイトメガロウイルス（CMV）の関与が指摘されていたが、多くの患者ではCMV再活性化を認めず、その関与は不明であった。本研究では末梢血リンパ球の広範な表面及び細胞内マーカーを主成分分析により解析し、CMV既感染のダサチニブ治療患者では他の薬剤で治療した患者よりNK細胞がCMV関連高分化型形質を持つことを示した。この形質はCMV再活性化の有無に関わらず認められ、ダサチニブ治療により経時的に促進した。以上より、ダサチニブ治療はCMVの不顕性再活性化を介して高分化型NK細胞を誘導していることが強く示唆された。また、治療前に高分化型NK細胞の割合が高い患者はダサチニブ治療によってNK細胞が著増し、早期に深い治療効果を得ることから、NK細胞の形質はその後の治療によるLGL増加及び治療効果を予測する重要な因子であることが示された。以上の知見はNK細胞マーカーの個別解析では得られず、NK細胞を評価する上で主成分分析などによる多数のマーカーの統合的な解析の重要性が示された。			
以上の研究はチロシンキナーゼ阻害薬による免疫修飾メカニズムの解明に貢献し、今後の白血病治療の改善に寄与するところ大きい。			
従って、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。			
なお、本学位授与申請者は、平成 28 年 11 月 21 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			